УДК 575.86+599.323.4

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ПОЛНЫХ НУКЛЕОТИДНЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК КРЫС ЛИНИЙ WISTAR И OXYS ПИТОМНИКА ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ ИЦИГ СО РАН

Р.А. Максютов[1], Е.В. Гаврилова[1], Т.С. Непомнящих[1], У.Н. Роцкая[2], П.С. Лощенова[2], Н.Г. Колосова[2], О.И. Синицина[2], С.Н. Щелкунов[1, 2]

[1] Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор», пос. Кольцово, Россия, e-mail: maksyutov_ra@vector.nsc.ru;
[2] Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия, e-mail: snshchel@vector.nsc.ru

Поступила в редакцию 17 июля 2014 г. Принята к публикации 3 сентября 2014 г.

Исследованы полные нуклеотидные последовательности митохондриальной ДНК крыс линии Wistar и преждевременно стареющих крыс линии OXYS, чувствительных к катарактогенному эффекту галактозы, из Центра коллективного пользования «Генофонды лабораторных животных» ИЦиГ СО РАН (нуклеотидные последовательности депонированы в генбанк. Показано, что крысы линии OXYS (ИЦиГ) имеют дополнительные две уникальные нуклеотидные замены по сравнению с крысами линии Wistar (ИЦиГ), не встречающиеся в других известных нуклеотидных последовательностях митохондрий крыс, при этом обе нуклеотидные замены не приводят к аминокислотным заменам, поэтому все фенотипические различия в данных линиях определяются исключительно различиями в ядерной ДНК. Сравнительный анализ показал, что крысы линии Wistar (ИЦиГ) имеют значительное количество нуклеотидных замен в митохондриальной ДНК по сравнению с группой линий крыс, полученных от аутбредной колонии крыс Wistar, что опровергает возможное отношение крыс линии Wistar (ИЦиГ) к исходной линии крыс Wistar или ее потомкам. Высказано предположение о том, что линия крыс Sprague Dawley, по крайней мере по женскому пути, является прародителем крыс линии Wistar (ИЦиГ).

Ключевые слова: крысы линии Wistar и OXYS; митохондриальная ДНК; степень родства.

ВВЕДЕНИЕ

Крысы *Rattus norvegicus* имеют широкое применение в качестве лабораторных животных и представляют собой отличную модель для исследования восприимчивости к раку, гипертензии, ожирению, диабету, аутоиммунным и другим заболеваниям. В Институте цитологии и генетики СО РАН в 1970-е гг. в результате селекции и инбридинга крыс Wistar, чувствительных к катарактогенному эффекту галактозы, была создана линия преждевременно стареющих крыс OXYS (Соловьева и др., 1975). В пяти первых поколениях развитие катаракты провоцировали нагрузкой галактозой, в дальнейшем проводился отбор по ранней спонтанной катаракте, сцепленно с которой животные унаследовали синдром преждевременного старения. Помимо катаракты (Колосова и др., 2003б), данный синдром проявляется в ускоренном старении мозга (Колосова и др., 2003а; Kolosova *et al.*, 2009) с признаками болезни Альцгеймера (Stefanova *et al.*, 2014a) и раннем развитии ассоциированных со старением заболеваний: ретинопатии, аналогичной возрастной макулярной дегенерации у людей, остеопороза, артериальной гипертензии (Колосова и др., 2003а; Bobko *et al.*, 2005; Markovets *et al.*, 2011a, b; Kozhevnikova *et al.*,

2013). Модель успешно используется для исследования механизмов развития этих заболеваний, оценки эффективности новых способов их профилактики и лечения (Markovets *et al.*, 2011a, b; Kolosova *et al.*, 2012a, b; Muraleva *et al.*, 2012; Stefanova *et al.*, 2014b).

Предполагается, что ведущую роль в патогенезе преждевременного старения крыс OXYS играют нарастающие с возрастом нарушения структуры и функций митохондрий – изменение соотношения цитохромов внутренней мембраны, снижение активности F_1F_0-АТФ-синтетазы, дыхательного контроля и скорости фосфорилирования, снижение объемной и поверхностной плотности митохондрий, появление митохондрий с лизисом матрикса и деструкцией крист (Шабалина и др., 1995; Колосова и др., 2001; Vays *et al.*, 2014).

Большинство вновь создаваемых линий крыс уникальны по фенотипическим маркерам, при этом различия на генном уровне остаются до конца не изученными. Существуют сотни инбредных линий крыс с неясной историей происхождения и последующей эволюции (Canzian, 1997), что также вносит сложности в построение генных карт мутаций. Определенный вклад в фенотипические различия дают мутации, расположенные в митохондриальной ДНК (мтДНК). Известно, что сотни мутаций в тРНК, рРНК, белках, кодируемых генами мтДНК, связаны с различными заболеваниями человека (Brandon *et al.*, 2005). Логично было предположить, что феномен ускоренного старения, наблюдаемый у крыс линии OXYS, может быть связан с наследуемыми изменениями митохондриального генома.

Цель настоящего исследования – оценить возможный вклад мтДНК в фенотипические различия между крысами OXYS и Wistar из Центра коллективного пользования «Генофонды лабораторных животных» ИЦиГ СО РАН. Для этого на основе расшифровки и анализа полных нуклеотидных последовательностей мтДНК нами было оценено наличие аминокислотных замен в белках, кодируемых генами, расположенными в мтДНК сравниваемых линий крыс. Другой целью работы было установление родства линии Wistar (ИЦиГ) с другими широко используемыми в медико-биологических исследованиях линиями крыс *Rattus norvegicus*, что важно для корректного сравнения результатов экспериментов, проводимых на различных близкородственных линиях крыс. Для выявления близкородственных линий крыс и, как следствие, происхождения линии Wistar (ИЦиГ) нами был произведен сравнительный анализ всех известных на настоящий момент полноразмерных мтДНК разных линий крыс.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Линии крыс

Крысы линий Wistar (ИЦиГ) (Wistar_ICG) и OXYS (ИЦиГ) (OXYS_ICG) получены из Центра коллективного пользования «Генофонды лабораторных животных» ИЦиГ СО РАН.

Для сравнения использовали крыс линии Wistar (Пущино) (Wistar_Pushino) из SPF (specified pathogen free) питомника лабораторных животных «Пущино» (Московская область). Эта аутбредная линия крыс была получена компанией Scientific Products Farm Ltd. (предшественник компании «Charles River United Kingdom» (CRUK) из Института WISTAR в 1947 г. В 1975 г. линия была передана из CRUK в питомник CRL, США. В питомник «Пущино» сток поступил из питомника CRL, США в 2001 г. Подробная характеристика линии приведена на сайте http://www.harlan.com/.

Выделение тотальной ДНК крыс

Работа выполнена на трехмесячных крысах-самцах линий OXYS и Wistar из Центра коллективного пользования «Генофонды лабораторных животных» ИЦиГ СО РАН и из SPF-питомника лабораторных животных «Пущино». Тотальную ДНК печени пяти животных для каждой линии выделяли из замороженных тканей, хранящихся при –70 °С, при помощи набора «Wizard SV Genomic DNA Purification System» (Promega, США) с добавлением протеиназы К в соответствии с рекомендациями производителя. Концентрация выделенной ДНК была измерена спектрофотометрически по поглощению при длине волны 260 нм. Качество препаратов ДНК оценивали, сравнивая поглощение при длинах волн 260 и 280 нм, при этом качественными считали образцы ДНК, для которых $D_{260}/D_{280} \approx 1,8$.

Олигонуклеотидные праймеры для секвенирования митохондриальной ДНК

Конструирование олигонуклеотидных праймеров для амплификации перекрывающихся фрагментов мтДНК и последующего секвенирования и подбор условий реакции выполняли с помощью программы Oligo v.6 (Borland International), используя нуклеотидную последовательность мтДНК крыс линии Wistar (GenBank: X14848.1).

Суммарно 111 разработанных нами праймеров синтезировали на автоматическом синтезаторе ABI-394 (Applied Biosystems, США) в Институте химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (Новосибирск).

Амплификация и секвенирование митохондриальной ДНК

Для крыс каждой линии с помощью набора «XL PCR Kit» (Applied Biosystems, США) были получены ПЦР-фрагменты, перекрывающие всю последовательность мтДНК. 50 мкл реакционной смеси содержало 1xXL Buffer II, 200 мкМ dNTP, 1,5 мМ $Mg(OAc)_2$, по 300 нМ двух олигонуклеотидных праймеров, 2 ед. rTth DNA polymerase, 5 мкл раствора ДНК. ПЦР проводили на приборе «GeneAmp PCR System 9700» (Applied Biosystems, США) по следующему алгоритму: 94 °С – 1 мин, далее 30 циклов: 94 °С – 15 с, 55 °С – 30 с, 68 °С – 6 мин с последующей инкубацией при 72 °С – 10 мин. Очистку ПЦР-фрагментов из агарозного геля проводили при помощи набора «Gel Extraction Kit» (QIAGEN, Германия).

Реакцию секвенирования проводили с использованием набора BigDye 3.1 (Applied Biosystems, США) с последующей очисткой на сефадексе G-50 superfine. Секвенирование проводили по обеим цепям ДНК. Расшифровку первичных данных секвенирования (хроматограмм) проводили с помощью программы Sequencher v.4.0.5 (Gene Codes Corporation, США).

Анализ последовательностей

Полученные нуклеотидные последовательности мтДНК наравне с доступными полными геномами мтДНК других линий крыс были выровнены с помощью программы ClustalW (Thompson *et al.*, 1994). Дендрограммы были построены без укоренения методом ближайшего соседа (NJ – Neighbor Joining) при использовании 2-параметровой модели Кимуры в программе MEGA версия 4 (Tamura *et al.*, 2007). Для оценки достоверности топологии использовался бутстреп-тест (1000 репликаций) (Felsenstein, 1985). Генетическая дистанция между группами линий и исследуемыми линиями (p-дистанция) подсчитана в программе MEGA версия 4 (Tamura *et al.*, 2007).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Анализ полных нуклеотидных последовательностей митохондриальной ДНК крыс Wistar (ИЦиГ) и OXYS (ИЦиГ)

В результате выполненной работы были определены полные нуклеотидные последовательности мтДНК крыс Wistar (ИЦиГ) (GenBank: JX105355.1) и OXYS (ИЦиГ) (GenBank: JX105356.1). Их размер составил 16309 п.н. Последующий анализ показал, что все доступные полные геномы мтДНК крыс (табл. 1) в построенной дендрограмме распределились в несколько групп линий (рис. 1). Внутри своей группы крысы линии Wistar (ИЦиГ) отличаются от других линий крыс не более чем на 11 нуклеотидных замен. При этом крысы линии Wistar (ИЦиГ) отличаются по одной нуклеотидной замене от крыс *Rattus norvegicus* линии F344 × BN F1 (GenBank: AY769440.1) и по двум нуклеотидным заменам – от крыс *Rattus norvegicus* линии SS/Jr (GenBank: GU997608.1), *Rattus norvegicus* линии SR/Jr (GenBank: GU997611.1), *Rattus norvegicus* линии PVG/OlaHsd (GenBank: FJ919762.1). Если первая нуклеотидная замена является общей для всех линий крыс, то вторая несет различия (идентична для линий SS/Jr и SR/Jr). Крысы линии OXYS (ИЦиГ) отличаются по двум дополнительным уникальным нуклеотидным заменам относительно крыс линии Wistar (ИЦиГ) и, соответственно, всех остальных. При этом обе замены являются незначащими и не приводят к аминокислотным заменам.

Относительно других групп линий крысы линии Wistar (ИЦиГ) имеют от 94 до 112 нуклео-

тидных замен, что соответствует p-дистанции 0,528–0,612 % (табл. 2).

Анализ фрагмента нуклеотидной последовательности митохондриальной ДНК крыс линии Wistar (Пущино)

Для установления степени родства линий Wistar (ИЦиГ) и Wistar (Пущино) нами был определен фрагмент нуклеотидной последовательности 1839–3205 н мтДНК крыс линии Wistar (Пущино) длиной 1367 п.н. На рис. 2 приведено NJ-дерево, построенное на основе этих данных, а также всех доступных последовательностей из генбанка. В результате было установлено, что крысы линии Wistar (Пущино) не имеют нуклеотидных замен в исследуемом фрагменте мтДНК, в частности относительно

Таблица 1

Названия линий крыс с соответствующими номерами из GenBank

№	Название линии крыс	Номер доступа в GenBank	№	Название линии крыс	Номер доступа в GenBank
1	BBDP/Rhw	FJ919760.1	19	BN/SsNHsdMCW	AY172581.1
2	MNS	HM152028.1	20	Wild/Mcwi	DQ673916.1
3	BBDR/Rhw	FJ919771.1	21	Wild/Tku	DQ673917.1
4	Lew/Ztm	FJ919759.1	22	L4	FJ919764.1
5	LEW/NCrlBR	HM152027.1	23	B	FJ919763.1
6	AS	GU997609.2	24	ACI/Eur	DQ673908.1
7	GH/OmrMcwi	DQ673911.1	25	SS/Jr	GU997608.1
8	MHS/Gib	FJ919770.1	26	SR/Jr	GU997611.1
9	SHR/Hsd/MCO	GU997610.2	27	SS/JrHsd/Mcwi	DQ673914.1
10	SHR/Mol	FJ919768.1	28	FHH/Eur	DQ673910.1
11	SHRSP	FJ919769.1	29	T2DN/Mcwi	DQ673915.1
12	GK/KyoSwe	FJ919766.1	30	F344/NHsd	DQ673909.1
13	GK/Far	DQ673912.1	31	PVG/OlaHsd	FJ919762.1
14	GK/Swe	DQ673913.1	32	F344 × BNF1	AY769440.1
15	WK/Kyoto	FJ919767.1	33	F344/DuCrl2Swe	FJ919761.1
16	WKY/NCrl	DQ673907.1	34	Wistar_ICG	JX105355.1
17	Copenhagen	AJ428514.1	35	OXYS_ICG	JX105356.1
18	Wild/Swe	FJ919765.1			

Таблица 2

Генетическая дистанция между линиями/группами линий крыс

	P-дистанция между средними значениями групп, %						
	Wistar_ICG	Группа I	Группа II	Группа III	Группа IV	Группа V	Группа VI
Wistar_ICG		0,021	0,593	0,612	0,591	0,528	0,560
Группа I	0,021		0,588	0,606	0,591	0,528	0,556
Группа II	0,593	0,588		0,094	0,559	0,515	0,548
Группа III	0,612	0,606	0,094		0,576	0,535	0,551
Группа IV	0,591	0,591	0,559	0,576		0,566	0,610
Группа V	0,528	0,528	0,515	0,535	0,566		0,522
Группа VI	0,560	0,556	0,548	0,551	0,610	0,522	

П р и м е ч а н и е . Обозначения групп представлены на рис. 1.

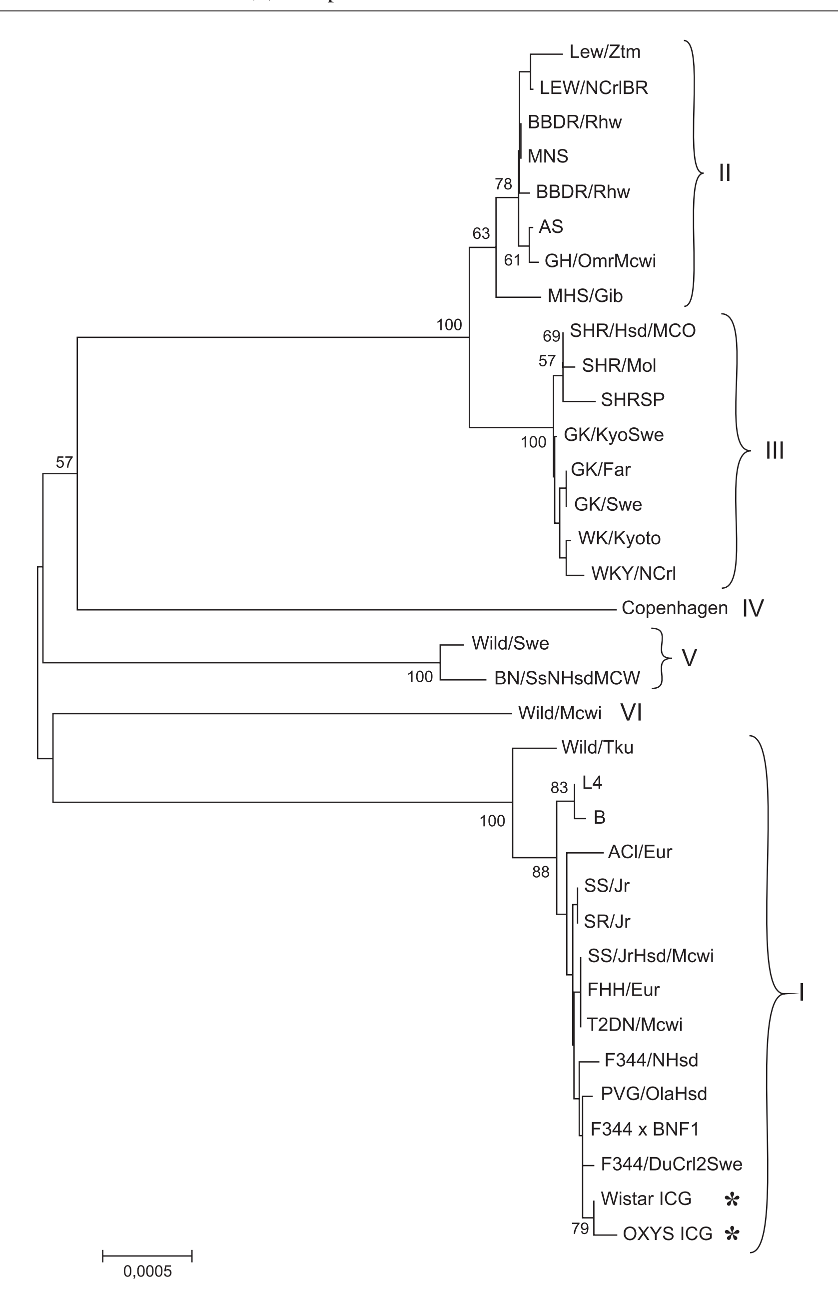


Рис. 1. Дендрограмма 35 линий крыс, построенная на основе полных нуклеотидных последовательностей митохондриальной ДНК с использованием метода ближайшего соседа (NJ) при использовании 2-параметровой модели Кимуры в программе MEGA версия 4.

В узлах ветвей показаны коэффициенты поддержки бутстреп-теста более 50 % (для 1000 псевдореплик). На каждой ветке обозначено название соответствующей линии крыс (табл. 1). * Линии крыс, нуклеотидные последовательности для которых получены в данной работе; римскими цифрами обозначены линии/группы линий, для которых рассчитано генетическое расстояние (табл. 2).

линии GH/OmrMcwi, и отличаются на 1 нуклеотидную замену относительно линий GK/Far, GK/Swe, WKY/NCrl, WK/Kyoto. При этом максимальное количество – 5 нуклеотидных замен – крысы линии Wistar (Пущино) имеют относительно крыс линий SS/Jr, SR/Jr, PVG/OlaHsd, F344 × BN F1 (р-дистанция 0,367 %).

ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты нашего анализа показали, что 35 линий крыс распределяются в несколько групп (рис. 1). При этом одна из групп представлена линиями крыс WKY/NCrl, WK/Kyoto, GK/Swe, GK/Far, SHRSP, GH/OmrMcwi, полученными от

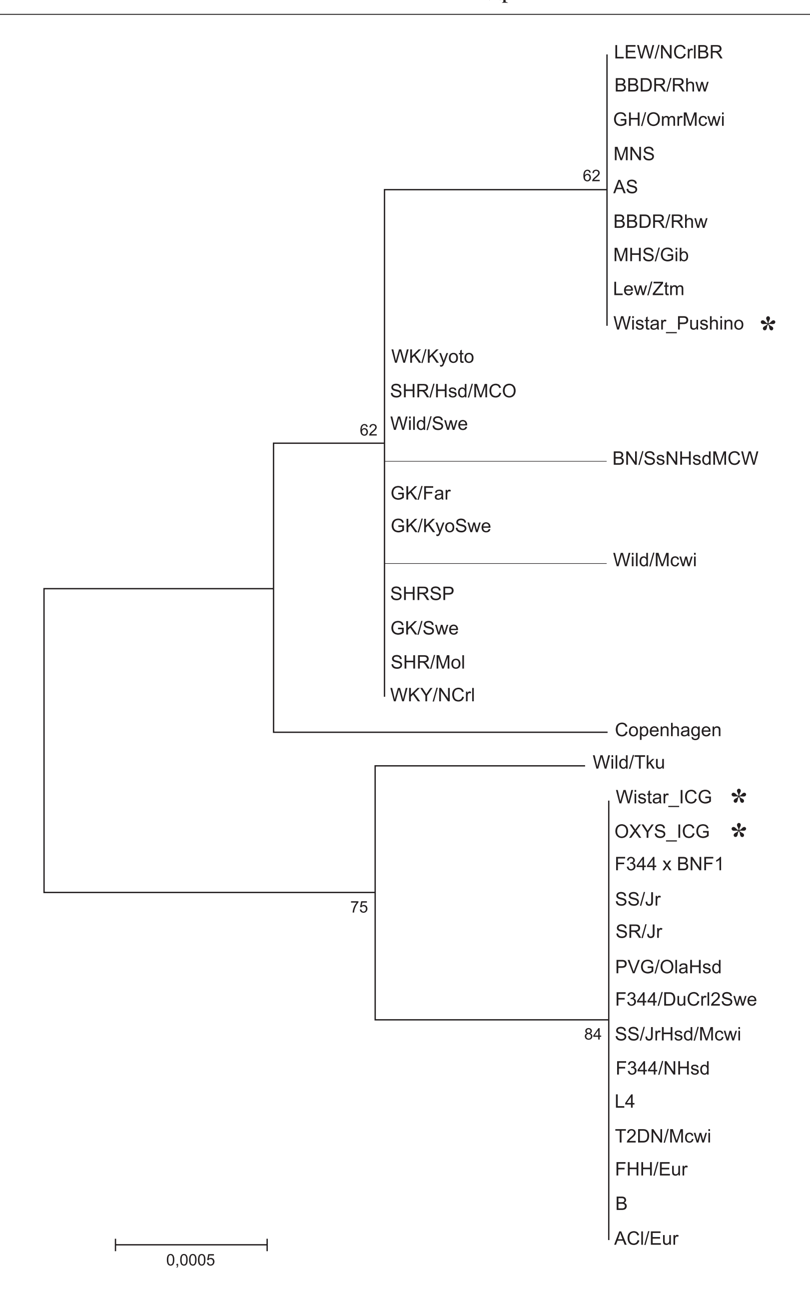


Рис. 2. Дендрограмма 36 линий крыс, построенная на основе фрагмента нуклеотидной последовательности 1839–3205 н митохондриальной ДНК, с использованием метода ближайшего соседа (NJ) при использовании 2-параметровой модели Кимуры в программе MEGA версия 4.

В узлах ветвей показаны коэффициенты поддержки бутстреп-теста более 50 % (для 1000 псевдореплик). На каждой ветке обозначено название соответствующей линии крыс (табл. 2). * Линии крыс, нуклеотидные последовательности для которых получены в данной работе.

аутбредной колонии крыс Wistar в Японии (Canzian, 1997; Schlick *et al.*, 2006). Незначительные различия в нуклеотидных последовательностях мтДНК этих линий (до 6 нуклеотидов внутри данной группы) могут объясняться как разнообразием, присутствовавшим в родительской аутбредной колонии крыс Wistar, так и новыми мутациями, которые могли возникнуть после создания крыс указанных линий. Исследуемые нами линии крыс Wistar (ИЦиГ) и OXYS (ИЦиГ) принадлежат к другой группе, в которую входят крысы F344 × BN F1, SS/Jr, SR/Jr, PVG/OlaHsd, FHH/Eur, T2DN/Mcwi, ACI/Eur, F344/NHsd. Известно, что последние две линии крыс были получены в 1920-х гг. в Колумбийском университете Кертисом и Даннингом (Curtiss; Dun-

ning) (Hedrich, 1990). При этом данная группа значительно отличается от группы линий крыс, полученных от аутбредной колонии крыс Wistar (более 94 нуклеотидов между группами), что ставит под сомнение возможное родство крыс линии Wistar (ИЦиГ) и исходной линии крыс Wistar или ее потомков (табл. 1).

Исходя из полученных данных можно заключить, что линия крыс Wistar (ИЦиГ) произошла от линии *Rattus norvegicus* strain F344 × BN F1 (GenBank: AY769440.1) или имеет общую с ним линию-родителя, с меньшей вероятностью – с крысами *Rattus norvegicus* линии SS/Jr (GenBank: GU997608.1), *Rattus norvegicus* линии SR/Jr (GenBank: GU997611.1), *Rattus norvegicus* линии PVG/OlaHsd (GenBank: FJ919762.1), *Rattus norvegicus* линия F344/DuCrl2Swe (GenBank: FJ919761.1). Известно, что крысы *Rattus norvegicus* линии F344 × BN F1 являются гибридами первого поколения между F344/NHsd самками и BN/RijHsd самцами и используются преимущественно в экспериментах по изучению хронической невропатической боли.

Поскольку линия крыс OXYS (ИЦиГ) имеет дополнительно две уникальные нуклеотидные замены относительно линии крыс Wistar (ИЦиГ), не встречающиеся в других известных нуклеотидных последовательностях ДНК митохондрий крыс, это является доказательством происхождения данной линии от линии крыс Wistar (ИЦиГ). При этом обе нуклеотидные замены не приводят к аминокислотным заменам, поэтому все фенотипические различия в данных линиях могут объясняться исключительно различиями в геномной ДНК.

Анализ фрагмента нуклеотидной последовательности мтДНК крыс линии Wistar (Пущино) подтверждает ее принадлежность к группе линий крыс, полученных от аутбредной колонии крыс Wistar (рис. 2). Для более точного сравнительного анализа линии Wistar (Пущино) необходимо секвенирование полного генома митохондриальной ДНК данной линии.

Более половины всех лабораторных линий крыс получены из исходной аутбредной колонии Wistar. При этом среди них существуют сотни линий крыс с неясной историей происхождения. Известно, что наиболее близкие по нуклеотидной последовательности мтДНК к линии Wistar (ИЦиГ) линии SS/Jr и SR/Jr получены из исходной аутбредной колонии Sprague Dawley, история которой начинается с 1925 г. Работы по созданию данного стока начаты в 1925 г. доктором Р. Дэули. Он скрестил гибридного капюшонного самца и самку линии Wistar. В питомник CRL животные попали в 1950 г. из Sprague Dawley, Inc. В 1955 г. животные из исходных колоний Charles River SD™ были редеривированы кесаревым сечением с целью получения колонии лабораторных животных, свободных от различных патогенов. В 1991 г. из животных этой группы образовано 8 колоний IGS Foundation. В 1997 г. животные были редеривированы, и из них была сформирована колония изоляторного содержания (Krinke, 2000; Sharpe, La Regina, 2000). Линии Wistar и Sprague Dawley фенотипически очень близки, и главным отличительным признаком является отношение длины хвоста к длине тела, которое всегда меньше 1 для линии Wistar и больше 1 для линии Sprague Dawley. Подтвердить или опровергнуть историю происхождения интересующих нас линий крыс сейчас становится возможным благодаря исследованию полных нуклеотидных последовательностей мтДНК.

Как отмечалось выше, крысы *Rattus norvegicus* находят широкое применение в качестве лабораторных животных и представляют собой отличную модель для исследования различных аутоиммунных заболеваний, включая ревматоидный артрит. Причем выраженность индуцируемого в эксперименте заболевания и эффективность его лечения в значительной степени зависят от используемой линии крыс и ее производных (Bolon *et al.*, 2011). Для полноценного сравнения получаемых разными авторами результатов важно установить с помощью современных геномных методов точное происхождение и родство линий крыс, используемых в эксперименте. Полученные нами данные с учетом изученных ранее свойств крыс линии OXYS (ИЦиГ) позволяют предположить перспективность использования этой линии в модели адъювант-индуцированного артрита.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 14-15-00050).

ЛИТЕРАТУРА

Колосова Н.Г., Айдагулова С.В., Непомнящих Г.И. Динамика структурно-функциональных изменений митохондрий гепатоцитов преждевременно стареющих крыс линии OXYS // Бюл. эксперим. биол. и медицины. 2001. Т. 132. № 8. С. 235–240.

Колосова Н.Г., Лебедев П.А., Айдагулова С.В., Морозкова Т.С. Крысы OXYS как модель сенильной катаракты // Бюл. эксперим. биол. и медицины. 2003а. Т. 136. С. 415–419.

Колосова Н.Г., Лебедев П.А., Фурсова А.Ж., Морозкова Т.С., Гусаревич О.Г. Преждевременно стареющие крысы OXYS как модель сенильной катаракты человека // Усп. геронтологии. 2003б. Т. 12. С. 143–148.

Соловьева Н.А., Морозкова Т.С., Салганик Р.И. Получение сублинии крыс с признаками наследственной галактоземии и исследование их биохимических особенностей // Генетика. 1975. № 5. С. 63–71.

Шабалина И.Г., Колосова Н.Г., Гришанова А.Ю., Соловьева Н.А., Соловьев В.Н., Салганик Р.И. Активность окислительного фосфорилирования, F0F1-АТФазы и содержание цитохромов митохондрий печени крыс с врожденным повышением способности радикалообразования // Биохимия. 1995. Т. 66. № 12. С. 2045–2052.

Bobko A.A., Sergeeva S.V., Bagryanskaya E.G., Markel A.L., Khramtsov V.V., Reznikov V.A., Kolosova N.G. 19F NMR measurements of NO production in hypertensive ISIAH and OXYS rats // Biochem. Biophys. Res. Commun. 2005. V. 330. No. 2. P. 367–370.

Bolon B., Stolina M., King S., Gasser J., Zack D., Feige U. Rodent preclinical models for developing novel antiarthritic molecules: comparative biology and preferred methods for evaluating efficacy // J. Biomed. Biotech. 2011. doi: 10.1155/2011/569068.

Brandon M.C., Lott M.T., Nguyen K.C., Spolim S., Navathe S.B., Baldi P., Wallace D.C. MITOMAP: a human mitochondrial genome database–2004 update // Nucl. Acids Res. 2005. V. 33. P. 611–613.

Canzian F. Phylogenetics of the laboratory rat Rattus norvegicus // Genome Res. 1997. V. 7. P. 262–267.

Felsenstein J. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap // Evolution. 1985. V. 39. P. 783–791.

Hedrich H.J. Genetic Monitoring of Inbred Strains of Rat. N.Y.: Fischer, 1990. P. 539.

Kolosova N.G., Muraleva N.A., Stefanova N.A., Fursova A.Z., Zhdankina A.A., Blagosklonny M.V. Prevention of age-related macular degeneration-like retinopathy by rapamycin in rats // Am. J. Pathol. 2012a. V. 181. P. 472–477.

Kolosova N.G., Stefanova N.A., Muraleva N.A., Skulachev V.P. The mitochondria-targeted antioxidant SkQ1 but not N-acetylcysteine reverses aging-related biomarkers in rats // Aging (Albany NY). 2012b. V. 4. No. 10. P. 686–694.

Kolosova N.G., Stefanova N.A., Sergeeva S.V. OXYS rats: a prospective model for evaluation of antioxidant availability in prevention and therapy of accelerated aging and age-related cognitive decline: Handbook of Cognitive Aging: Causes, Proceses / Eds Q. Gariépy, R. Ménard. N.Y.: Nova Sci. Publ., 2009. P. 47–82.

Kozhevnikova O.S., Korbolina E.E., Ershov N.I., Kolosova N.G. Rat retinal transcriptome: effects of aging and AMD-like retinopathy // Cell Cycle. 2013. V. 12. P. 1745–1761.

Krinke G.J. The handbook of experimental animals: The laboratory rat / Eds G. Bullock, T.E. Bunton. N.Y.: Academic Press, 2000. P. 1.

Markovets A.M., Fursova A.Z., Kolosova N.G. Therapeutic action of the mitochondria-targeted antioxidant SkQ1 on retinopathy in OXYS rats linked with improvement of VEGF and PEDF gene expression // PloS One. 2011a. V. 6. e21682.

Markovets A.M., Saprunova V.B., Zhdankina A.A. *et al*. Alterations of retinal pigment epithelium cause AMD-like retinopathy in senescence-accelerated OXYS rats // Aging (Albany NY). 2011b. V. 3. No. 1. P. 44–54.

Muraleva N.A., Ofitserov E.N., Tikhonov V.P., Kolosova N.G. Efficacy of glucosamine alendronate alone and in combination with dihydroquercetin for treatment of osteoporosis in animal model // Indian J. Med. Res. 2012. V. 135. P. 221–227.

Schlick N.E., Jensen-Seaman M.I., Orlebeke K. *et al*. Sequence analysis of the complete mitochondrial DNA in 10 commonly used inbred rat strains // Am. J. Physiol. Cell Physiol. 2006. V. 291. P. 1183–1192.

Sergeeva S., Bagryanskaya E., Korbolina E., Kolosova N. Development of behavioral dysfunctions in accelerated-senescence OXYS rats is associated with early postnatal alterations in brain phosphate metabolism // Exp. Gerontol. 2006. V. 41. P. 141–150.

Sharpe P.E., La Regina M.C. The Laboratory Rat / Ed. M.A. Suckhow. N.Y.: CRC Press, 2000. P. 1–2.

Stefanova N.A., Kozhevnikova O.S., Vitovtov A.O., Maksimova K.Y., Logvinov S.V., Rudnitskaya E.A., Korbolina E.E., Muraleva N.A., Kolosova N.G. Senescence-accelerated OXYS rats: a model of age-related cognitive decline with relevance to abnormalities in Alzheimer disease // Cell Cycle. 2014a. V. 15. P. 898–909.

Stefanova N.A., Muraleva N.A., Skulachev V.P., Kolosova N.G. Alzheimer's disease-like pathology in senescence-accelerated OXYS rats can be partially retarded with mitochondria-targeted antioxidant SkQ1 // J. Alzheimers Dis. 2014b. V. 38. P. 681–694.

Tamura K., Dudley J., Nei M., Kumar S. MEGA4: molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0 // Mol. Biol. Evol. 2007. V. 24. P. 1596–1599.

Thompson J.D., Higgins D.G., Gibson T.J. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice // Nucl. Acids Res. 1994. V. 22. P. 4673–4680.

Vays V.B., Eldarov C.M., Vangely I.M., Kolosova N.G., Bakeeva L.E., Skulachev V.P. Antioxidant SkQ1 delays sarcopenia-associated damage of mitochondrial ultrastructure // Aging (Albany NY). 2014. V. 6. P. 140–148.

COMPARISON OF THE COMPLETE NUCLEOTIDE SEQUENCES OF MITOCHONDRIAL DNA FROM WISTAR AND OXYS RAT STRAINS MAINTAINED AT THE INSTITUTE OF CYTOLOGY AND GENETICS SB RAS

R.A. Maksyutov[1], E.V. Gavrilova[1], T.S. Nepomniashchikh[1], U.N. Rotskaya[2], P.S. Loshchenova[2], N.G. Kolosova[2], O.I. Sinitsyna[2], S.N. Shchelkunov[1, 2]

[1] State Research Center of Virology and Biotechnology Vector, Koltsovo, Novosibirsk oblast, Russia;
[2] Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia

Summary

The study was performed with complete nucleotide sequences of the mitochondrial DNA of Wistar rats and prematurely aging OXYS rats, sensitive to the cataractogenic effect of galactose, kept at the Gene pool of laboratory animals shared access center, Institute of Cytology and Genetics (ICG) of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences. The nucleotide sequences were submitted to GenBank. It was shown that two additional unique nucleotide substitutions between rats OXYS (ICG) and Wistar (ICG) were absent from other known nucleotide sequences of rat mitochondrial DNA of rats and that they did not cause amino acid substitutions, so that all phenotypic differences between the lines were determined only by differences in their nuclear DNA. The comparative analysis showed that Wistar (ICG) rats had a significant number of nucleotide substitutions compared to rat strains derived from an outbred Wistar colony. This observation contradicts the conjectured relationship of Wistar (ICG) rats to the original Wistar rat stock or its descendants. It is assumed that the Wistar (ICG) rats had descended from the Sprague Dawley rat line, at least, through female lineage.

Key words: Wistar and OXYS rats, mitochondrial DNA, degree of relationship.